

PENELITIAN

Hubungan Ekspresi Her-2/Neu, Skor Gleason dan Metastasis
Nina Mardiana, Imam Susilo

Majalah **Patologi**

Hubungan Ekspresi *Her-2/Neu*, Skor *Gleason* dan Metastasis Tulang pada Adenokarsinoma Prostat

Nina Mardiana, Imam Susilo

*Departemen Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga
 Surabaya*

ABSTRAK**Latarbelakang**

Prediksi sifat biologik adenokarsinoma prostat masih menjadi masalah. Umumnya, kanker prostat tidak menimbulkan keluhan (*asimtomatik*) walaupun kadang-kadang sudah ada metastasis. Oleh karena itu, dibutuhkan parameter yang bisa dipakai sebagai faktor prognostik sehingga pendekatan terapi bisa lebih tepat. Penelitian ini menganalisis hubungan ekspresi *Her-2/Neu* dan skor Gleason dengan kejadian metastasis tulang.

Metode

Penilaian dilakukan terhadap blok parafin penderita adenokarsinoma prostat yang didiagnosis di RSUD. Dr. Soetomo mulai Januari 2009-Mei 2012 dan memenuhi kriteria, sebanyak total 28 sampel. Kemudian dilakukan analisis hubungan masing-masing variabel dengan uji Spearman dan *Chi Square*.

Hasil

Ekspresi *Her-2/Neu* terbesar ialah kategori negatif (16/28 kasus). Sebagian besar kanker berdiferensiasi rendah (17/28 kasus). Jumlah sampel dengan metastasis 16/28 kasus. Uji hubungan antara ekspresi *Her-2/Neu* dan skor Gleason, antara ekspresi *Her-2/Neu* dan metastasis serta antara skor Gleason dan metastasis menunjukkan hubungan yang tidak bermakna.

Kesimpulan

Terdapat hubungan yang tidak bermakna antara ekspresi *Her-2/Neu*, skor Gleason dan kejadian metastasis tulang pada adenokarsinoma prostat.

Kata kunci : adenokarsinoma prostat, ekspresi *Her-2/Neu*, skor Gleason, metastasis tulang.

ABSTRACT**Background**

Prediction of prostate adenocarcinoma biological behavior is still a problem. Generally, prostate cancers do not cause complaints although some times there are already metastasized. Therefore, parameters are required which can be used as prognostic factors so that therapeutic approaches can be more precise. This study analyzed the correlation of *Her-2/Neu* expression, Gleason's score and the incidence of bone metastases.

Methods

Assessment was performed on paraffin blocks of prostate adenocarcinoma patients who were diagnosed in Dr. Soetomo hospital during January 2009-May 2012 and met the criteria, with a total of 28 samples. Each variable was analyzed with the Spearman and Chi Square test.

Results

Expression of *Her-2/Neu* was mostly included in the negative category (16/28 cases). Most of the cancers showed low differentiation or high grade (17/28 cases). The number of metastases was 16/28 cases. Statistical test which assesses the relationship between expression of *Her-2/Neu* and Gleason's score, between *HER-2/Neu* expression and metastasis as well as the Gleason's score and metastasis showed no significant correlation.

Conclusion

There was no significant correlation between the expression of *Her-2/Neu*, Gleason's score and the incidence of bone metastases in prostate adenocarcinoma.

Key words : Adenocarcinoma of the prostate, *Her-2/Neu* expression, Gleason's score, bone metastases.

PENDAHULUAN

Kanker prostat merupakan keganasan yang paling banyak dijumpai pada laki-laki di Amerika Serikat, dengan jumlah sekitar 29% dari semua kanker dan menjadi penyebab 10% kematian di populasi.^{1,2} Di Eropa, sekitar 11% dari semua kanker pada laki-laki ialah kanker prostat dan menjadi 9% penyebab kematian.³ Di RSUD. Dr. Soetomo Surabaya, setiap tahun ditemukan 30-40 kasus baru adenokarsinoma prostat dan sebagian sudah bermetastasis saat diagnosis ditegakkan.

Kanker prostat umumnya ditemukan pada penderita berusia lebih dari 50 tahun.¹ Sekitar 75% laki-laki yang didiagnosis menderita kanker prostat berusia di atas 65 tahun.² Sekitar 60% penderita datang pada stadium awal (*localized disease*) sementara 15% sudah menunjukkan metastasis saat diagnosis. Ini berhubungan dengan sifat kanker prostat yang sebagian besar tidak memberikan gejala khas, sisanya bisa disertai gangguan berkemih, *urgency* maupun *frequency*.⁴

Salah satu tantangan terbesar yang dihadapi ialah untuk mengidentifikasi penderita kanker yang bersifat agresif dan berpotensi metastasis dengan yang *indolent* dan seperti yang tidak menyebabkan masalah.⁵

Petanda prognostik tradisional seperti *grade*, stadium klinis, dan PSA memiliki nilai terbatas pada individu berbeda. Oleh karena itu, dibutuhkan pengembangan petanda prognostik molekuler untuk meningkatkan manajemen penderita kanker prostat. Pemahaman tentang peran onkogen dan *tumor suppressor genes* mendominasi penelitian tentang biologi kanker saat ini dan berpotensi menghasilkan target terapi kanker terbaru. Salah satu yang perannya pada adenokarsinoma prostat masih belum jelas ialah *Her-2/ Neu*.¹

Her-2/Neu oncogene product ialah salah satu protein transmembran yang termasuk *epidermal growth factor receptor family*. Onko-protein ini ditemukan dalam persentase yang tinggi pada kanker payudara, ovarium, paru, lambung, dan kelenjar liur.¹

Dalam dua dekade terakhir, penelitian mengenai ekspresi *epidermal growth factor family* pada kanker prostat menjadi perdebatan. Ada penelitian yang menunjukkan overekspresi *Her-2/Neu* dalam level rendah, namun penelitian lain menggunakan teknik imunohistokimia atau FISH menunjukkan hasil kontroversial. Ada yang

menunjukkan hubungan antara ekspresi *Her-2/Neu* dengan stadium lanjut dan *grade* yang lebih tinggi, namun ada pula yang sebaliknya.^{6,7}

Epidermal growth factor receptor berperan pada progresi kanker melalui *neoangiogenesis*, metastasis dan penghambatan apoptosis. Overekspresi reseptor ini biasanya berhubungan dengan penyakit lanjut dan prognosis yang buruk. Namun, perkembangan terakhir menunjukkan bahwa overekspresi *Her-2/Neu* pada kanker payudara memungkinkan terapi target *trastuzumab*, suatu antibodi monoklonal yang bisa dipakai secara tunggal atau bersamaan dengan kemoterapi. Untuk kanker prostat, perkembangan terapi tersebut memerlukan penelitian lanjutan.⁶

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan untuk menganalisis hubungan ekspresi *Her-2/Neu*, skor Gleason dan kejadian metastasis tulang pada adenokarsinoma prostat sehingga bisa digunakan sebagai faktor prognostik dan pertimbangan terapi.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini bersifat observasional analitik dengan desain *cross sectional*, dilakukan di Departemen/SMF/Instalasi Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga/RSUD Dr. Soetomo dengan menggunakan blok parafin penderita adenokarsinoma prostat yang mempunyai data hasil skintigrafi (*bone scan*) mulai Januari 2009-Mei 2012.

Sediaan Hematoksin & Eosin dinilai ulang dan dari blok parafin yang mengandung cukup sel tumor dibuat sediaan dengan pulasan antibodi *Her-2/Neu*klonCB11. Ekspresi protein *Her-2/Neu* dinilai secara visual dengan mikroskop cahaya binokular dan dibuat skor semi kuantitatif dengan menghitung intensitas dan persentase membran sel tumor yang terpulsa sempurna pada pembesaran objektif 40x (lapangan pandang besar). Ekspresi *Her-2/Neu* dihubungkan dengan skor Gleason dan metastasis tulang secara statistik menggunakan perangkat lunak *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS). Untuk mengetahui hubungan ekspresi *Her-2/Neu* dan skor Gleason serta hubungan ekspresi *Her-2/Neu* dan kejadian metastasis tulang digunakan uji korelasi Spearman. Untuk menilai hubungan antara skor Gleason dengan kejadian metastasis tulang digunakan uji Chi Square. Jika signifikansinya lebih kecil atau sama dengan

0.05 ($p \leq 0.05$) maka terdapat hubungan yang bermakna antara variabel yang diteliti.

HASIL

Selama periode Januari 2009 sampai Mei 2012 didapatkan total 132 kasus adenokarsinoma prostat. Dari jumlah tersebut, yang memenuhi kriteria inklusi hanya 28 sampel dan semua diteliti lebih lanjut.

Tabel 1. Deskripsi sampel berdasarkan penilaian usia dan variabel

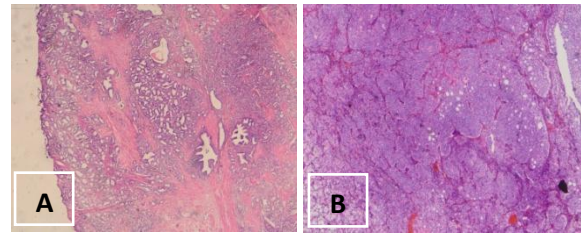
| Penilaian | Jumlah/ Total Kasus |
|---|------------------------|
| Usia (tahun) | |
| • 41-50 | 3 / 28 |
| • 51-60 | 5 / 28 |
| • 61-70 | 13 / 28 |
| • 71-80 | 6 / 28 |
| • 81-90 | 1 / 28 |
| Ekspresi Her-2/ Neu (kategori) | |
| • Negatif | 16 / 28 |
| • Equivocal | 7 / 28 |
| • Positif | 5 / 28 |
| Skor Gleason (diferensiasi) | |
| • Diferensiasi baik (Skor Gleason 2-4) | 0 / 28 |
| • Diferensiasi sedang (Skor Gleason 5-7) | 11 / 28 |
| • Diferensiasi buruk (Skor Gleason (8-10) | 17 / 28 |
| Kejadian Metastasis | |
| • Metastasis | 16 / 28 |
| • Non Metastasis | 12 / 28 |

Berdasarkan tabel tersebut, penderita adenokarsinoma prostat paling banyak berada pada rentang usia 61-70 tahun (13/28 kasus) dengan usia rata-rata penderita 64, 96 tahun. Ekspresi *Her-2/Neu* terbanyak adalah kategori negatif yaitu 16/28 kasus dan sebagian besar sampel mempunyai skor Gleason tinggi (diferensiasi buruk) yaitu 17/28 kasus serta memiliki metastasis tulang (16/28 kasus).

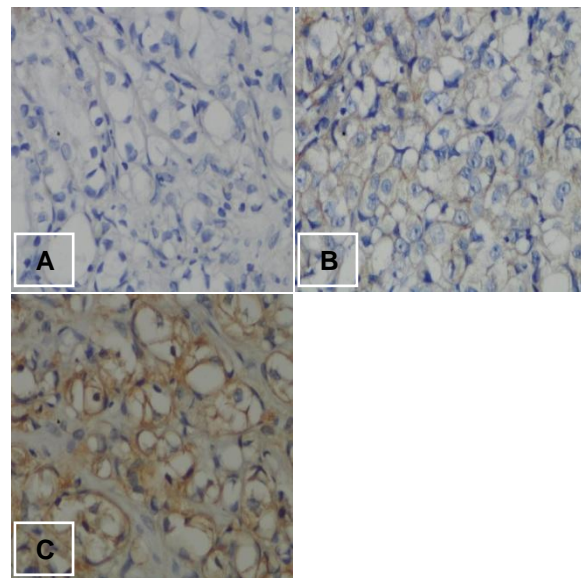
Tabel 2. Deskripsi ekspresi *Her-2/Neu* berdasarkan derajat diferensiasi

| <i>Her-2/Neu</i> | Diferensiasi sedang | Diferensiasi buruk | Total |
|------------------|------------------------|-----------------------|-------|
| Negatif | 8 | 8 | 16 |
| Equivocal | 2 | 5 | 7 |
| Positif | 1 | 4 | 5 |
| Total | 11 | 17 | 28 |

Ekspresi *Her-2/Neu* negatif pada kedua kelompok diferensiasi menunjukkan jumlah yang sama. Untuk ekspresi *equivocal* dan positif, terdapat perbedaan jumlah, pada kelompok diferensiasi buruk relatif lebih banyak.



Gambar 2. A. Adenokarsinoma prostat diferensiasi sedang, B. Adenokarsinoma prostat diferensiasi buruk (HE, objektif 4x).



Gambar 3. Ekspresi *Her-2/Neu*. A. Negatif; B. Equivocal; C. Positif (Imunohistokimia, objektif 40x).

Tabel 3. Deskripsi ekspresi *Her-2/Neu* berdasarkan kejadian metastasis.

| <i>Her-2/Neu</i> | Metastasis | Non metastasis | Total |
|------------------|------------|----------------|-------|
| Negatif | 11 | 5 | 16 |
| Equivocal | 4 | 3 | 7 |
| Positif | 1 | 4 | 5 |
| Total | 16 | 12 | 28 |

Pada kelompok metastasis, ekspresi *Her-2/Neu* negatif ditemukan paling banyak, sebaliknya ekspresi positif justru paling sedikit.

Tabel 4. Deskripsi skor *Gleason* dan kejadian metastasis.

| Skor Gleason | Metastasis | Non metastasis | Total |
|---------------------|------------|----------------|-------|
| Diferensiasi sedang | 6 | 5 | 11 |
| Diferensiasi buruk | 10 | 7 | 17 |
| Total | 16 | 12 | 28 |

Kejadian metastasis didapatkan sedikit lebih banyak pada kelompok diferensiasi buruk namun gambaran serupa juga didapatkan pada kejadian non metastasis.

Dari uji korelasi ekspresi *Her-2/Neu* dan derajat diferensiasi didapatkan nilai r korelasi: 0,25 ($p=0,486$). Uji korelasi ekspresi *Her-2/Neu* dan kejadian metastasis menunjukkan nilai r korelasi: -1,36 ($p=0,673$). Hasil uji korelasi skor Gleason dan kejadian metastasis dengan X^2 (hitung) = 0,05 ($p=0,823$).

DISKUSI

Dari total 28 sampel, usia penderita terbanyak berada pada rentang 61-70 tahun. Hal ini sesuai dengan literatur dan penelitian sebelumnya yang menyebutkan adenokarsinoma prostat ialah penyakit yang paling banyak menyerang laki-laki pada dekade keenam sampai dekade kedelapan. Penderita paling banyak berusia di atas 50 tahun bahkan sekitar 75% diagnosis dibuat pada usia lebih dari 65 tahun. Penyakit ini jarang dijumpai pada usia kurang dari 40 tahun, walaupun kejadian pada dekade pertama pernah dilaporkan.^{1,2}

Terdapat kontroversi ekspresi *Her-2/Neu* pada adenokarsinoma prostat. Ada yang menemukan overekspresi *Her-2/Neu* dalam level rendah dengan kejadian sekitar 34%. Ada pula yang hanya menemukan 3% dari 62 spesimen prostatektomi radikal yang mengalami overekspresi sementara 86% lainnya negatif. Hasil penelitian ini menunjukkan lebih banyak ekspresi *Her-2/Neu* negatif. Berbagai perbedaan ini bisa timbul karena teknik yang digunakan untuk menilai overekspresi *Her-2/Neu* berbeda, juga terdapat perbedaan stadium klinik, status preservasi antigen, dan tipe antibodi yang digunakan.⁷

Skor *Gleason* dipakai untuk menilai derajat diferensiasi sel pada pemeriksaan histopatologik. Pola pertumbuhan tumor dinilai dengan skor tertentu, kemudian skor pola terbanyak dan kedua terbanyak dijumlahkan menjadi skor *Gleason*. Banyak yang menyebutkan bahwa skor *Gleason* berhubungan dengan prognostik penderita.²

Pada penelitian ini, derajat diferensiasi yang diperoleh untuk sampel tidak lengkap, hanya ditemukan sampel berdiferensiasi sedang dan buruk, dengan jumlah diferensiasi buruk lebih banyak. Kenyataan ini sejalan dengan literatur yang menyebutkan bahwa skor *Gleason*

2-4 khas dijumpai sebagai tumor kecil di zona transisional yang mungkin secara kebetulan bisa ditemukan saat pemeriksaan spesimen TURP dengan kecurigaan BPH. Jadi skor Gleason rendah memang relatif lebih jarang dijumpai. Sementara, mayoritas kanker yang ditemukan dari sediaan biopsi jarum dalam rangka skrining mempunyai skor *Gleason* antara 5-7.

Kejadian metastasis pada adenokarsinoma prostat merupakan tahap lanjut penyakit. Disebutkan di literatur, bahwa 15% penderita yang datang berobat dan didiagnosis kanker prostat sudah mempunyai metastasis yang terbaca sebagai peningkatan *uptake [99m] TcMDP* saat skintigrafi.⁴ Hasil yang diperoleh relatif lebih banyak dibandingkan literatur. Ini disebabkan oleh prosedur pemeriksaan *bone scan* yang selektif, hanya dilakukan pada penderita adenokarsinoma prostat dengan nilai PSA >50 mg/ml.

Untuk kepentingan penghitungan statistik menggunakan uji *Spearman*, jumlah sampel masing-masing kelompok yang dinilai harus sama, mengikuti jumlah sampel kelompok terkecil. Hasil dikatakan bermakna bila nilai $p \leq 0,05$. Analisis terhadap semua data menunjukkan nilai $p > 0,05$, sehingga terdapat hubungan yang tidak bermakna antara variabel yang dinilai.

Peneliti terdahulu melaporkan adanya overekspresi *Her-2/Neu* pada sekitar 29% kanker prostat yang berhubungan dengan *grading*.^{8,9} Peneliti lain melaporkan bahwa tidak terdapat hubungan ekspresi *Her-2/Neu* dengan *tumor grade*.⁷ Selain itu, juga dilaporkan bahwa overekspresi *Her-2/Neu* berhubungan dengan peningkatan kemampuan tumor menjadi resisten hormonal atau bersifat *androgen independence*.^{10,11} Semua perbedaan dan kontroversi tersebut diduga berhubungan dengan perbedaan teknik, stadium klinik, preservasi antigen, tipe antibodi dan teknik *antigen retrieval*. Selain itu, cara penilaian skor Gleason dan distribusi sampel yang kurang variatif bisa mempengaruhi signifikansi hasil. Beberapa penelitian menyebutkan peran *Her-2/Neu* dalam progresivitas penyakit. Reseptor *Her-2/Neu* dikatakan dapat berikatan tanpa ligand dengan membentuk homodimer sehingga bisa mengaktivasi inti dan menyebabkan ekstensi penyakit. Namun, beberapa penelitian lain tetap menyebutkan hubungan ekspresi *Her-2/Neu* dengan *grading* tinggi yang bisa menyebabkan metastasis.^{7,12}

Skor *Gleason* sudah lama dianggap sebagai salah satu faktor prognostik adenokarsinoma prostat. Penelitian terdahulu menghubungkan skor *Gleason* dengan progresivitas penyakit dan menyebutkan adanya hubungan antara *grading* dengan stadium klinis.⁷ Namun, penelitian ini menunjukkan hubungan yang tidak bermakna antara skor *Gleason* dan kejadian metastasis.

Literatur terdahulu menyatakan bahwa adanya perubahan epitel normal prostat menjadi *hormone-refractory cancer* dengan gambaran overekspresi *Her-2/Neu* yang melibatkan berbagai perubahan fungsi sinyal pertumbuhan yang berbeda. Juga tampak peran *epidermal growth factor family* seperti EGF, TGF, *amphiregulin*, dan reseptornya terhadap pertumbuhan dan proliferasi sel kanker melalui mekanisme autokrin dan parakrin. Reseptor *growth factor* yang mengalami dimerisasi selanjutnya autofosforilasi akan menginisiasi perubahan intraseluler. Jalur ini akan mengaktivasi Ras dan MAPK yang membuat siklus sel menjadi aktif dari fase G1 menjadi S. *mitogen-activated protein (MAP) kinase pathway* merupakan salah satu sistem yang penting dalam transmisi sinyal oleh *growth factor*. *Ligand binding* oleh reseptor tirosinkinase menyebabkan oto fosforilasi reseptor dan ikatan dengan adaptor protein, yang akhirnya akan mengaktivasi protein ras. Ras merupakan anggota superfamili protein guanositriphosphatase (GTPase). Dalam keadaan inaktif, berikatan dengan guanositriphosphate (GDP), sedangkan dalam keadaan aktif berikatan dengan guanositriphosphate (GTP). Ras yang teraktivasi selanjutnya akan mengaktivasi *MAP kinase pathway*, yang selanjutnya akan mengaktivasi faktor transkripsi pada intisel, seperti *myc*, dan memicu terjadinya mitogenesis. Sinyal EGFR tidak hanya penting untuk proliferasi tetapi juga progresi kanker melalui neoangiogenesis, kemampuan metastasis dan penghambatan apoptosis.^{6,13}

Berdasarkan penjelasan tersebut, untuk terjadinya proliferasi, peningkatan skor *Gleason* dan metastasis dibutuhkan sejumlah gen dan molekul yang berperan. Pada penelitian ini, hubungan yang tidak bermakna antara ekspresi *Her-2/Neu* dengan skor *Gleason* dan metastasis berhubungan dengan kompleksitas gen dan molekul tersebut. TGF merupakan salah satu faktor selain *Her-2/Neu* yang paling berperan

untuk aktivasi perubahan sinyal pertumbuhan sel di tingkat pengaturan *upstream*. Melalui jalur PI3K yang paling banyak berhubungan dengan progresivitas kanker prostat, selain regulasi *upstream*, transformasi maligna bisa terjadi pada komponen *downstream*. Untuk kejadian metastasis, komponen yang bisa mengubah struktur matriks ekstraseluler, misalnya MMP-9 juga memegang peranan penting.⁶ Diperlukan analisis lebih lanjut untuk menentukan komponen atau molekul mana yang paling berperan sebagai faktor prognostik adenokarsinoma prostat.

KESIMPULAN

Terdapat hubungan yang tidak bermakna antara ekspresi *Her-2/Neu*, skor Gleason dan kejadian metastasis tulang pada adenokarsinoma prostat.

DAFTAR PUSTAKA

1. Epstein JI. The lower urinary tract and male genital system : in Robbins pathologic basis of disease. 8th ed. Philadelphia: Saunders; 2010;p.993-1003.
2. Rosai J. Male reproductive system: in Rosai and Ackerman's surgical pathology. Vol.1. 9th ed. China: Elsevier; 2011; p.1361-87.
3. Heidenreich A, Aus G, Abbou CC, Bolla M. EAU Guideline for prostate cancer. Eur Assoc Urol. 2008;52:68-80.
4. Nachtsheim D. Prostate cancer; local disease: in Urological oncology. Texas: Landes Bioscience; 2005;p.1-9.
5. Ablin RJ, Mason MD. Introduction: metastasis as a therapeutic target: in Metastasis of prostate cancer. Dordrecht: Springer. 2007; 1-3.
6. Lorenzo GD, Bianco R, Tortora G, Fortunato C. Involvement of growth factor receptors of the epidermal growth factor receptor family in prostate cancer development and progression to androgen independence. Clin Prostat Ca. 2003; 2: 50-7.
7. Nishio Y. Prognostic significance of immunohistochemical expression of the Her-2/neu oncoprotein in bone metastatic prostate cancer. J Urol. 2006;68:110-5.
8. Ross JS, Sheehan CE, Buchan H. Prognostic significance of Her-2/Neu gene amplification status by fluorescence in situ hybridization of prostate carcinoma. Cancer 1997;79:2162-70.

9. Osman I. Her-2/Neu (p185neu) protein expression in the natural or treated history of prostate cancer. Clin Cancer Res. 2001; 7:2643-7.
10. Signoretti S, Montironi R, Manola J. Her-2 neu expression and progression toward androgen independence in human prostate cancer. JNCI 2000;92:1918-25.
11. Lara PN, Chee KG, Longmate J. Trastuzumab plus docetaxel in Her-2/Neu positive prostate carcinoma: final results from the California Cancer Consortium screening and phase II trial. Cancer 2004; 100:2125-31.
12. Barton J, Blackledge G, Wakeling A. Growth factors and their receptors: new targets for prostate cancer therapy. Elsevier. United Kingdom. 2001;58:114-22.
13. Stricker TP, Kumar V. Neoplasia: in Robbins pathologic basic of disease. 8th ed. Philadelphia: Saunders. 2010; p259-330.